

Uw diagnose?

dr. ir. A.J. van Adrichem¹, dr. E.R. Heddema², drs. G. Latten³, drs. E. Zandijk⁴, dr. ing. M.P.G. Leers⁵

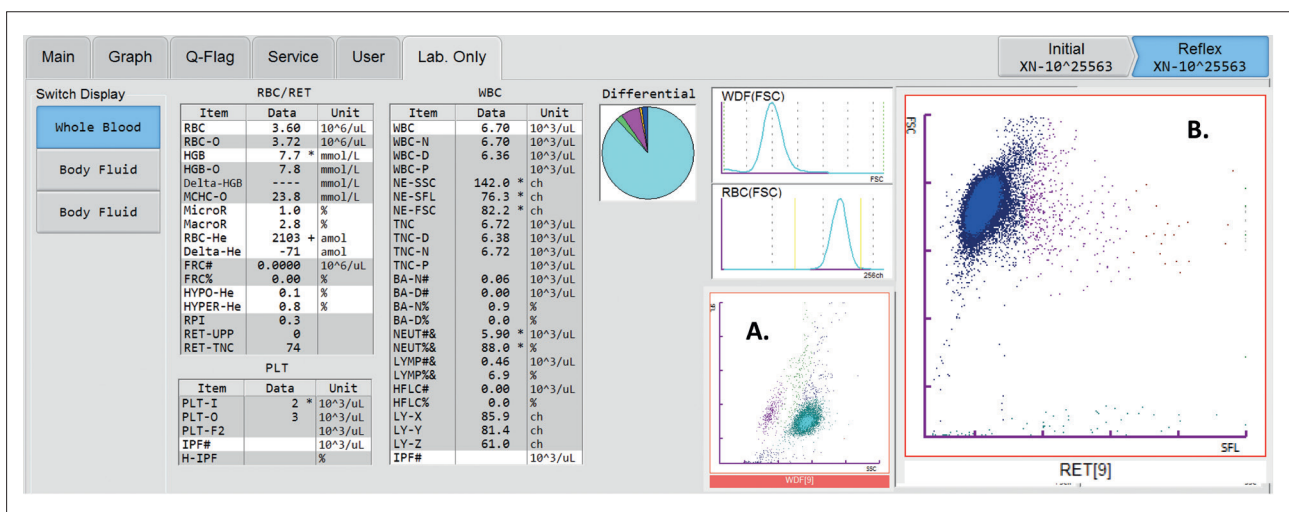
(NED TIJDSCHR HEMATOL 2019;16:44-6)

CASUS

Een 63-jarige man werd door de huisarts naar de spoedeisende hulp (SEH) gestuurd in verband met algehele malaise, diarree en braken sinds enkele dagen. Daarnaast vond zijn partner hem wat somnolent. Bij lichamelijk onderzoek werden talrijke petechiën gevonden op de onderarmen en -benen van de patiënt. De petechiën waren er pas sinds een dag. Verder waren er koorts (39,2°C), tachypneu (30/min) en tachycardie (110/min). De bloeddruk was slechts 75/40 mmHg, het bewustzijn maximaal en er was geen nekstijfheid. Bij laboratoriumonderzoek werden een acute nierfunctiestoornis (eGFR/CKD-EPI 18 ml/min/1,73 m²), een normocytair anemie (Hb 7,8 mmol/l), een normaal aantal leukocyten

(6,4 x 10⁹/l) en een diepe trombocytopenie (3 x 10⁹/l) gezien. Het CRP was sterk verhoogd (475 mg/l). De routine-hematologie-analyzer liet de volgende resultaten zien (zie *Figuur 1*), waarbij *Figuur 1A* het leuko-dif-kanaal betreft en *Figuur 1B* het reticulocytenkanaal. Met name de combinatie van een diepe trombocytopenie, een normaal aantal leukocyten met een sterk verhoogde NE-SFL (fluorescentiesterkte van het RNA in de neutrofiële granulocyten) en een negatieve delta-HE (verschil in hemoglobinevulling tussen die van de reticulocyten en de mature erythrocyten) in combinatie met een sterk verhoogd CRP is hierbij opvallend.

WAT IS UW DIAGNOSE?



FIGUUR 1. Resultaten op de routine-hematologie-analyzer XN10 (Sysmex). Opvallend hierbij zijn de verhoogde NE-SFL (76,3; normaal <kanaal 60) en een negatieve delta-He (-71; normaal >0 fmo).

¹klinisch chemicus i.o., afdeling Klinische Chemie & Hematologie, ²arts-microbioloog, afdeling Medische Microbiologie & Infectiepreventie, ³SEH-arts^{KNMG}, Spoedeisende Hulp, ⁴internist-intensivist, afdeling Interne Geneeskunde, ⁵klinisch chemicus-hematoloog, afdeling Klinische Chemie & Hematologie, Zuyderland Medisch Centrum Heerlen/Sittard-Geleen.

Correspondentie graag richten aan dhr. dr. ing. M.P.G. Leers, klinisch chemicus-hematoloog, afdeling Klinische Chemie & Hematologie, Zuyderland Medisch Centrum, Dr. H. van der Hoffplein 1, 6162 BG Sittard-Geleen, tel.: 088 459 75 03, e-mailadres: mat.leers@zuyderland.nl

Trefwoorden: bloedbeeld, *capnocytophagus camimorsus*, hemocytometrie, sepsis

Keywords: *capnocytophagus camimorsus*, CBC, hemocytometrie, sepsis

ONTVANGEN 2 AUGUSTUS 2018, GEACCEPTTEERD 24 SEPTEMBER 2018

ANTWOORD

Bacteriële sepsis (in dit geval door *Capnocytophaga canimorsus*).

DIAGNOSE

De May-Grünwald-Giemsa-kleuring van het perifere bloeduitstrijkje, die op de digitale microscoop werd beoordeeld (zie *Figuur 2A*), liet een duidelijke toxische korreling van de neutrofiële granulocyten zien. Daarnaast werden rijpe neutrofiële granulocyten gezien die een of meerdere staafvormige bacteriën in hun cytoplasma hadden. Aangezien de aanwezigheid van intracellulaire bacteriën in perifere bloed hoog alarmerend is, werd de arts-microbioloog in consult geroepen. Aanvullend onderzoek door de medisch microbioloog liet, weliswaar met enige moeite, ook in de Gram-kleuring enkele leukocyten met intracellulair aanwezige staafvormige bacteriën zien. Deze bleken Gram-negatief te zijn (zie *Figuur 2B*). Uit nader anamnestic onderzoek bij de patiënt bleek dat hij enkele honden had waarmee hij regelmatig stoeide. Een aantal dagen eerder had hij hierbij enkele wondjes opgelopen. De link werd vervolgens vrij snel gelegd: bovenaan in de differentiaaldiagnose stond een sepsis met *Capnocytophaga canimorsus*.

Op de SEH waren reeds bloedkweken afgenomen en was direct gestart met breed spectrumantibiotica (ceftriaxon en amoxicilline).

Enkele dagen later verbeterde de toestand van de patiënt. Na twee en drie dagen werd door de afdeling Medische Microbiologie uit beide aerobe flesjes van de bij opname afgenomen bloedkweeksets Gram-negatieve staafvormige bacteriën gekweekt, die na overenting niet meer wilden groeien. Met behulp van 16s-rRNA-sequentieanalyse werden deze gedetermineerd als *Capnocytophaga canimorsus*. Om bovengenoemde reden kon geen antibiogram worden bepaald.

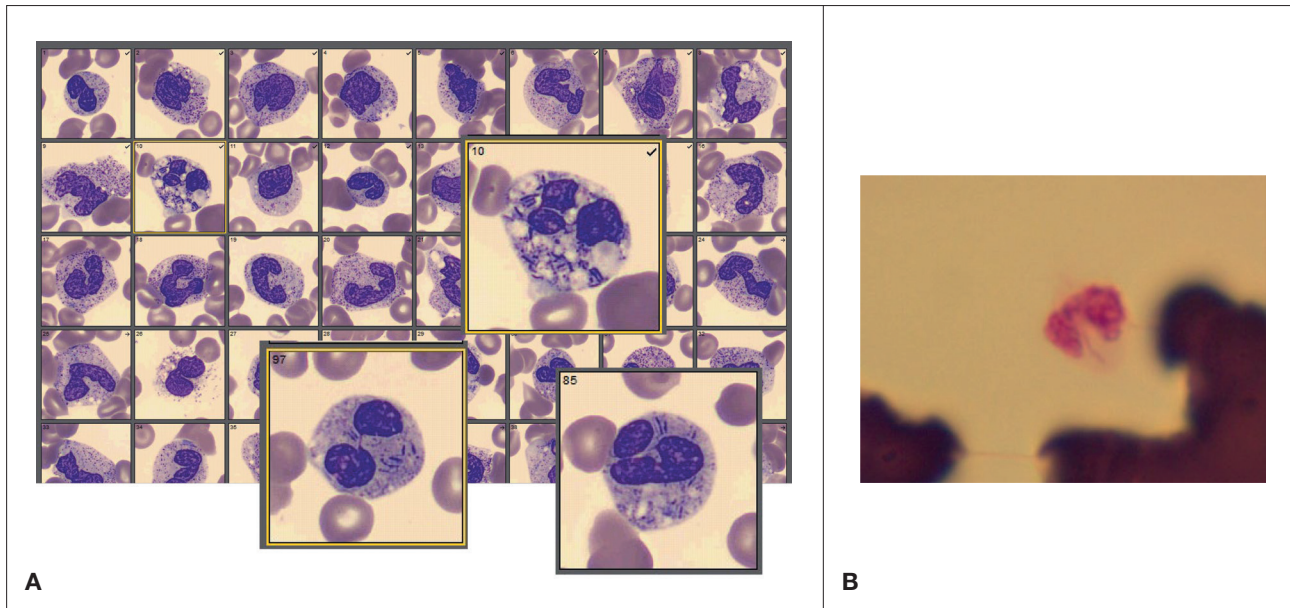
ACHTERGROND

De microscopische beelden spreken voor zich. Het is vrij ongewoon om bacteriën aan te treffen in neutrofiële granulocyten aanwezig in het perifere bloed en dit heeft een duidelijke, urgente klinische betekenis. In de routine-workflow binnen het laboratorium wordt als eerste een klein of volledig bloedbeeld bepaald op een routine-hematologie-analyzer. Kennis van de aanwezige parameters op deze analyzer levert nuttige informatie op die al een duidelijke richting in het diagnostisch traject kan geven. Dit was ook in bovengenoemde casus het geval. Naast de resultaten van de biochemische parameters (o.a. sterk verhoogd CRP, dat duidt op een acute-fasereactie) was hiernaast onder andere een diepe trombocytopenie. In de differentiaaldiagnose hiervoor staan verminderde aanmaak, verhoogde afbraak, verhoogd verbruik of een technisch artefact (stolsels in de buis of aggregaatforming).

Een technisch artefact kon worden uitgesloten aangezien in het EDTA-bloedmonster geen stolsels zichtbaar waren. Daarnaast wordt het absoluut aantal trombocyten bij een trombocytopenie op twee manieren gemeten: routinematig via impedantie (PLT-i; hierbij kunnen trombocytenuitstrijkjes vals-verlaagde waarden geven) en via een speciale fluorescerende kleurreactie (PLT-O (optisch); waarmee kan worden gecorrigeerd voor eventueel aanwezige aggregaten). Zowel hemocytometrisch (FRC%= 0,0%) als bij de microscopische beoordeling waren geen indicaties voor de aanwezigheid van fragmentocyten, waardoor eventuele trombocytopenische trombotische purpura niet meteen hoog in de differentiaaldiagnose staat. Bij een combinatie van een hoog CRP en een echte diepe, spontaan opgetreden trombocytopenie staat een verhoogd verbruik door diffuus intravasculaire stolling (sepsis) wel hoog in de differentiaaldiagnose.

Bij patiënt werd een sterk verhoogde neutrofielen-side fluorescence (NE-SFL) gevonden. Deze vrij nieuwe, veelal nog onbekende parameter geeft de mate van gemiddelde fluorescentie-aankleuring van het RNA aanwezig in de neutrofiële granulocyten weer.¹ De mate van RNA-aankleuring wordt gebruikt om, samen met de mate van korreling/intracellulaire onregelmatigheden (zogenoemde 'side scatter'-signaal; SSC) de diverse leukocytensubtypen, te weten lymfocyten, monocyt, eosinofiele en basofiele en neutrofiële granulocyten van elkaar te kunnen onderscheiden. De NE-SFL komt zelden boven kanaal 60 uit en als dit wel gebeurt, duidt dit op een verhoogde permeabiliteit van het celmembraan van de neutrofiële granulocyten. Bij activatie van onder andere de neutrofiële granulocyten vindt een translocatie van bepaalde lipidenrijke microdomeinen plaats richting het celmembraan. Door deze verhoogde aanwezigheid van lipidenrijke domeinen in het celmembraan wordt de cel sterk permeabel door de zeepachtige oplosmiddelen, aanwezig in de gebruikte reagentia van de hematologie-analyzer. Door de verhoogde permeabiliteit kunnen de fluorescerende RNA-kleurstoffen beter de cel binnendringen, waardoor de cel op zijn beurt sterker gaat fluoresceren. Hierdoor zal de gemiddelde fluorescentie van deze cellen hoger komen te liggen. Met name bacteriële infecties kunnen leiden tot extreme transiënte permeabiliteit van het celmembraan en dus NE-SFL-waarden tot zelfs boven kanaal 60. Voor virale infecties is dit nog nooit beschreven.

Naast een sterk verhoogde NE-SFL werd bij deze patiënt een negatieve delta-He gemeten. Laatstgenoemde is een parameter die wordt afgeleid uit de reticulocyten-plot van de hemocytometer (zie *Figuur 1B*). In deze plot wordt op de y-as de grootte ('forward scatter'; FSC) van de reticulocyten getoond. Deze FSC correleert met de hemoglobine-inhoud van de reticulocyten en wordt weergegeven als Ret-He. Delta-He is



FIGUUR 2. A. Naast een toxische granulatie worden ook intracellulair aanwezige bacteriën gezien in meerdere neutrofiële granulocyten (May-Grunwald-Giemsa-kleuring). **B.** De intracellulair aanwezige bacteriën blijken Gram-negatief te zijn.

het verschil van de in het reticulocytenkanaal gemeten gemiddelde hemoglobineconcentratie van de reticulocyten (Ret-He) en de rijpe erythrocyten (RBC-He).^{2,3} Het is een heel gevoelige hematologische parameter voor het aantonen van acute intracellulaire ijzerdeficiëntie; een negatieve delta-He is namelijk een indicatie dat de hemoglobinisatie van de nieuw geproduceerde reticulocyten minder is dan die van de mature erythrocyten. De Ret-He weerspiegelt de ijzerinbouw in het hemoglobine van de erythroïde voorlopers en aangezien deze maar 2-4 dagen aanwezig zijn, is dit een accurate maat voor het functioneel beschikbare ijzer. De RBC-He is een maat voor de ijzerinbouw van de rijpe erythrocyt en geeft informatie over de beschikbaarheid van het ijzer in de afgelopen 90-120 dagen. Omdat bij het doorlopen van de erythropoëse er een geleidelijke afname van het hemoglobinegehalte plaatsvindt, is het hemoglobinegehalte van de reticulocyt hoger dan dat van de rijpe erythrocyt, en dus de delta-He normaal gesproken altijd een positief getal.^{2,3}

Bij acute ontstekingsprocessen vindt een sterke toename in hepcidine plaats. Hepcidine is een eiwit dat een belangrijke rol speelt in de regulatie van de ijzerstofwisseling. Binding van hepcidine aan het transmembraaneiwit ferroportin resulteert in de internalisering en afbraak van ferroportin, met verminderde ijzerexport vanuit de darmepitheelcellen en de reticulo-endotheliale macrofagen naar het plasma als gevolg. De verminderde ijzerbeschikbaarheid voor de erythropoëse leidt tot een verminderde ijzerinbouw bij de hemoglobinisatie van de erythroïde voorlopers en in deze casus dus tot een negatieve Delta-He.

Capnocytophaga canimorsus is een zeldzame verwekker van humane bacteriële sepsis. Honden en katten zijn vaak drager van deze bacterie in hun mond en de bron van dergelijke infecties.⁴ In een retrospectieve studie in Nederland werd de incidentie geschat op 0,67 infecties per miljoen inwoners. Negen van de 32 beschreven patiënten werden opgenomen op de intensive-care unit; drie patiënten overleden.⁵

CONCLUSIE

Bij een combinatie van een verhoogd CRP, normaal aantal leukocyten, trombocytopenie, een NE-SFL boven kanaal 60 en een negatieve delta-He dient de laboratoriumspecialist alert zijn op de mogelijkheid van een bacteriële sepsis. Daarbij zijn een goede communicatie tussen de kliniek en het laboratorium, als ook een goede samenwerking tussen de verschillende laboratoriumdisciplines van groot belang.

REFERENTIES

- Henriot I, et al. New parameters on the hematology analyser XN10 (Sysmex TM) allow to distinguish childhood bacterial and viral infections. *Int J Lab Hematol* 2017;39:14-20.
- Weimann A, et al. Delta-He, Ret-He and a new diagnostic plot for differential diagnosis and therapy monitoring of patients suffering from various disease-specific types of anemia. *Clin Lab* 2016;62:667-77.
- Danielson K, et al. Delta-He: a novel marker of inflammation predicting mortality and ESA response in peritoneal dialysis patients. *Clin Kidney J* 2014;7:275-81.
- Leers MP, et al. De Kunst van het kijken. *Ned Tijdschr Hematol* 2011;8:231-2.
- Van Dam AP, et al. *Capnocytophaga canimorsus* infections in The Netherlands: a nationwide survey. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:312-5.